



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 650 531 A5

⑤① Int. Cl.⁴: C 12 P 17/18

// (C 12 P 17/18, C 12 R 1:645)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳ Gesuchsnummer:	7955/81	㉗ Inhaber:	Richter Gedeon Vegyészeti Gyar RT, Budapest X (HU)
㉑ Anmeldungsdatum:	14.12.1981	㉘ Erfinder:	Zalai, Karoly, Dr., Budapest II (HU) Trompler, Arpad, Budapest XIV (HU) Limdmayer, Emilia, Budapest VIII (HU) Terdy, Laszlo, Budapest XIX (HU) Kelemen, Agnes, Dr., Budapest XII (HU) Beszedics, Gyula, Budapest V (HU)
㉒ Priorität(en):	15.12.1980 HU 2986/80	㉙ Vertreter:	Patentanwälte, Schaad, Balass, Sandmeier, Alder, Zürich
㉓ Patent erteilt:	31.07.1985		
㉔ Patentschrift veröffentlicht:	31.07.1985		

㉕ Verfahren zur Extraktion von unfiltrierten Fermentbrühen.

㉖ Es wird eine durch *Claviceps purpurea* Stämme erzeugte unfiltrierte Fermentbrühe mit organischen Lösungsmitteln, die sich höchstens beschränkt mit Wasser mischen, extrahiert. Um die Extraktion zu vereinfachen wird die Fermentbrühe, deren pH-Wert am Ende der Fermentation zwischen 4,0 und 5,5 beträgt, unter Beibehaltung dieses pH-Wertes mit dem organischen Lösungsmittel vermischt und in der für die Extraktion der Pilzzellen notwendigen Zeit extrahiert. Aus dem Extrakt wird ein Ergotoxin-Alkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen. Aus der extrahierten Fermentbrühe kann sodann, nach Einstellung des pH-Wertes auf 7 bis 9, ein hauptsächlich wasserlösliche Mutterkornalkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Extraktion von durch *Claviceps purpurea* Stämmen erzeugten unfiltrierten Fermentbrühen mit organischen Lösungsmitteln, die sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischen, dadurch gekennzeichnet, dass die Fermentation mit einem End-pH-Wert von 4,0 bis 5,5 ausgeführt wird, die unfiltrierte Fermentbrühe mit einem organischen Lösungsmittel, das sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischt, bei dem eigenen pH-Wert der Fermentbrühe in der für die Extraktion der Pilzzellen notwendigen Zeit extrahiert wird u. aus dem Extrakt ein Ergotoxin-Alkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen wird.

2. Verfahren zur Extraktion von durch *Claviceps purpurea* Stämmen erzeugten unfiltrierten Fermentbrühen mit organischen Lösungsmitteln, die sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischen, dadurch gekennzeichnet, dass die Fermentation mit einem End-pH-Wert von 4,0 bis 5,5 ausgeführt wird, die unfiltrierte Fermentbrühe mit einem organischen Lösungsmittel, das sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischt, bei dem eigenen pH-Wert der Fermentbrühe in der für die Extraktion der Pilzzellen notwendigen Zeit extrahiert wird, aus dem Extrakt ein Ergotoxin-Alkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen wird und aus der extrahierten Fermentbrühe ein hauptsächlich wasserlösliches Mutterkornalkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass als Extrahierungsmittel ein sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermisches niederes aliphatisches Keton oder ein Carbonsäureester oder ein chlorierter Kohlenwasserstoff verwendet wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Extraktion der Fermentbrühe bei einem pH-Wert von 4,7 bis 5,2 durchgeführt wird.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Extraktion der Fermentbrühe 3 bis 15 Minuten lang durchgeführt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man den pH-Wert der extrahierten Fermentbrühe auf 7 bis 9 einstellt und danach das hauptsächlich wasserlösliche Mutterkornalkaloide enthaltende Alkaloidgemisch gewinnt.

Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Extraktion von unfiltrierten Fermentbrühen, die bei der Anwendung von *Claviceps purpurea* Stämmen im allgemeinen unter saprophytischen Bedingungen entstehen. Die unter saprophytischen Bedingungen produzierenden *Claviceps purpurea* Stämme erzeugen vor allem Peptid-Alkaloide, auch Ergotoxin-Alkaloide genannt, darunter von allem Ergokornin und sein Epimer, das Ergokorninin, sowie α - und β -Ergokryptin u. ihre Epimere, das α - und β -Ergokryptinin, weiterhin gegebenenfalls Alkaloide, die nicht zum Peptid-Typ gehören, so Ergometrin und sein Epimer, das Ergometrinin. Unter den hergestellten Alkaloiden sind Ergometrin und sein Epimer wasserlöslich.

Die ungarische Patentschrift Nr. 164 658 bezieht sich auf die Herstellung von wasserlöslichen Alkaloiden, die aus der gefilterten Fermentbrühe bei einem basischen pH-Wert durch Extraktion gewonnen werden. Die Verarbeitung des gefilterten Mycel von diesem Verfahren nicht gelöst.

Die britische Patentschrift Nr. 1 158 380 bezieht sich vor allem auf die Herstellung von Ergotoxin-Alkaloiden, wo die Fermentbrühe gefiltert wird, und das Filtrat sowie das Mycel gesondert extrahiert werden. Die Ergotoxin-Alkaloide werden aus dem Mycel mit einem Gemisch von 2%iger wäss-

riger Weinsäure und Aceton extrahiert, der Extrakt wird eingeeengt, danach werden die Ergotoxin-Alkaloide bei einem basischen pH-Wert mit Chloroform herausgelöst, die dann durch Chromatographie gereinigt werden. Aus der gefilterten Fermentbrühe werden mit Chloroform weitere Ergotoxin-Alkaloide gewonnen.

Ebenfalls auf die Verarbeitung von gefilterter Fermentbrühe bezieht sich die ungarische Patentschrift Nr. 171 659, wonach die Ergotoxin-Alkaloide aus dem durch Filtern getrennten Mycel bei basischem pH-Wert mit ammoniakalischem Äthylacetat ausgelöst werden.

Da das Filtern einer grossen Quantität von Fermentbrühe eine ziemlich grosse Filterkapazität beansprucht und die Filterbarkeit der Fermentbrühe die Ausgewinnbarkeit der einzelnen Alkaloide entscheidend beeinflusst, strebte man beim Ausarbeiten von neuen Verfahren das Umgehen des Filterns an.

Bei den Verfahren ohne Filtern erschienen jedoch die wasserlöslichen Alkaloide und die Ergotoxin-Alkaloide gemeinsam im Extrakt bzw. beide Alkaloidtypen bleiben auch im Mycel; deshalb ist zum Trennen der beiden Alkaloidtypen ein erneuter Phasentausch notwendig.

Das in der ungarischen Patentschrift Nr. 164 116 vorgestellte Verfahren beruht auf einem solchen Verfahren zur Verarbeitung von ungefilterten Fermentbrühen. Dementsprechend wird der pH-Wert der ungefilterten Fermentbrühe auf 7 eingestellt, dann wird sie mit Ammoniumsulfat gesättigt und mit Aceton extrahiert. Der pH-Wert des Extrakts wird auf 3,5 eingestellt, es wird teilweise eingedampft, dann werden aus dem Rest durch Chloroform-Extraktion die Ergotoxin-Alkaloide abgetrennt, die mit Chromatographie gereinigt werden.

Die bekanntgemachte ungarische Patentschrift Nr. RI-631 stellt teilweise auch eine Methode vor, die auf der Verarbeitung von unfiltrierter Fermentbrühe basiert. Der pH-Wert der unfiltrierten Fermentbrühe wird auf 9-10 eingestellt, dann werden die Peptidalkaloide mit Methyl-isobutylketon extrahiert, die dann in saurem Wasser und danach in Chloroform gelöst werden.

Es wurde nun gefunden, dass die zur Gewinnung von Peptidalkaloiden angewendeten drei Schritte zu einem einzigen Extraktionsschritt zusammengezogen werden können, wenn die unfiltrierte Fermentbrühe im sauren pH-Bereich mit einem pH-Wert zwischen 4,0 und 5,5 extrahiert werden.

Die Extraktion der Peptidalkaloide ist in diesem charakteristischen pH-Bereich noch ausreichend selektiv, d.h. trotz des im Vergleich zum vorherigen (pH-Wert 3,5; Weinsäuremedium) erhöhten pH-Werts bleiben die wasserlöslichen Alkaloide in der wässrigen Phase. Gleichzeitig ist überraschenderweise bei einem Bereich des gewählten pH-Werts zwischen 4,0 und 5,5 der Wirkungsgrad der Peptidalkaloid-Extraktion günstiger als der bei einem basischen pH-Wert durchgeführten Extraktion.

Um das zu erklären, wurde bei unseren detaillierten Untersuchungen festgestellt, dass wenn die Fermentbrühe vor der Extraktion oder während der Extraktion alkalisiert wird, sich daraus organische Stoffe mit hohem Molekulargewicht ausscheiden, die in der Lage sind, einen grossen Teil der Alkaloide zu adsorbieren. Wenn bei der im basischen Bereich durchgeführten Extraktion auch Aussalzung angewendet wird, wird die Bildung dieser Niederschläge weiterhin verstärkt und die Trennbarkeit und die Ausbeute nehmen gleichermassen ab.

Als das Wesen unseres Verfahrens wird also die Tatsache betrachtet, dass eine Erhöhung des pH-Werts nicht der Extraktion vorausgehen kann, bei der Durchführung der Fermentation muss gesichert werden, dass bei ihrem

Abstellen der pH-Wert der Fermentbrühe in den gewünschten Bereich von 4,0 bis 5,5 fällt.

Einer weiteren wichtigen Beobachtung gemäss laufen während der Extraktion der Mycel enthaltenden Fermentbrühe zwei Prozesse gemeinsam ab. Während der Extraktion muss einerseits die Extraktion des Alkaloid-Gehalts der Zellen ablaufen, andererseits muss die Überführung der Alkaloide aus dem wässrigen Medium in das Lösungsmittelmedium erfolgen. Deshalb ist es während der Extraktion nicht genug, die sich aus dem Charakter der Extrahierungseinrichtung und der Verteilung der Alkaloide ergebende Aufenthaltsdauer einzustellen, sondern Plus-Zeit ist notwendig, um die Extraktion der Zellen zu beenden. Es ist überraschend und eine früher in keinem einzigen Fall erkannte charakteristische Tatsache, dass der Wirkungsgrad der Zellenextraktion den Zeitaufwand der Extraktion bestimmt. So muss bei der Extraktion unbedingt auf die Sicherung der notwendigen Zeit für die Zellenextraktion geachtet werden.

Die Extraktion ist mit jeglicher Arbeitsvorgangslösung durchführbar. Bei fraktionierter Extraktion wird das Lösungsmittel-Ausrühren mit 2-3 Wiederholungen durchgeführt. Weiterhin kann die unfiltrierte Fermentbrühe z.B. in einem RDC-Extraktor oder einem Gegenstrom-Drehtrommel- (z.B. Podbielniak-) Extraktor extrahiert werden.

Bei der Durchführung der einzelnen Vorgänge bietet die Einhaltung des erfindungsgemässen pH-Bereichs von 4,0-5,5 den technischen Vorteil, dass unter Umgehung der Niederschlagsbildung das Trennen der Phasen wesentlich einfacher wird.

Dementsprechend betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Extraktion von durch *Claviceps purpurea* Stämme erzeugten unfiltrierten Fermentbrühen mit organischen Lösungsmitteln, die sich mit Wasser überhaupt nicht oder nur beschränkt vermischen. Erfindungsgemäss geht man derart vor, dass die Fermentation mit einem End-pH-Wert von 4,0 bis 5,5 ausgeführt wird, die unfiltrierte Fermentbrühe mit einem organischen Lösungsmittel, das sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischt, bei dem eigenen pH-Wert der Fermentbrühe in der für die Extraktion der Pilzzellen notwendigen Zeit extrahiert wird, aus dem Extrakt ein hauptsächlich Ergotoxin-Alkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen wird, und gewünschtenfalls aus der extrahierten Fermentbrühe — vorzugsweise nach der Einstellung des pH-Werts auf 7 bis 9 — ein hauptsächlich wasserlösliche Mutterkornalkaloide enthaltendes Alkaloidgemisch gewonnen wird.

Nach dem erfindungsgemässen Verfahren wird von den durch *Claviceps purpurea* Pilzstämmen erzeugten unfiltrierten Fermentbrühen ausgegangen. Als Pilzstamm werden vor allem Ergotoxin-Alkaloide, darunter in erster Linie Ergokornin und seine Epimere, α - und β -Ergokryptin sowie die Epimere derselben, weiterhin gegebenenfalls auch wasserlösliche Mutterkornalkaloide erzeugende *Claviceps purpurea* Stämme angewendet. Es ist vorteilhaft, die beim Landesamt für Gesundheitswesen deponierten Stämme MNG 00022, MNG 00088 und MNG 00186 anzuwenden.

Die Fermentation kann auf an sich bekannte Weise, z.B. wie in der ungarischen Patentschrift Nr. 164 016 angegeben, durchgeführt werden, jedoch muss darauf geachtet werden, dass bei Beendigung der Fermentation der pH-Wert der Fermentbrühe zwischen 4,0 und 5,5, vorzugsweise zwischen 4,7 und 5,2, liegen soll. Falls gewünscht, wird der Fermentbrühe auf die in der ungarischen Patentschrift Nr. 153 739 angegebene Weise ein beliebiger, den osmotischen Druck des Nährbodens verstärkender Zusatzstoff hinzugegeben. Als den osmotischen Druck verstärkender Zusatzstoff können in erster Linie anorganische oder organische Salze, wie Natrium-, Kalium-, Calcium- und Magnesiumchlorid,

-sulfat, -carbonat, -phosphat, -acetat, -succinat oder -asparaginat, oder Mono- oder Disaccharide, wie Mannit, Sorbit, Glucose oder Saccharose, verwendet werden.

Nach Ablauf der Fermentation wird die unfiltrierte Fermentbrühe in einem Extraktor mit kontinuierlichem oder diskontinuierlichem Betrieb mit einem Lösungsmittel extrahiert, das sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischt, ohne dass vorher der pH-Wert der Fermentbrühe geändert würde. Als Extrahierungsmittel können in erster Linie sich mit Wasser nicht oder nur beschränkt vermischende niedere aliphatische Ketone, vorzugsweise Methylisobutylketon, oder niedere aliphatische Carbonsäureester, vorteilhaft Äthylacetat, oder chlorierte Kohlenwasserstoffe, vorteilhaft Chloroform oder Dichloräthan, angewendet werden.

Während der Extraktion muss darauf geachtet werden, dass die unfiltrierte Fermentbrühe und das Extrahierungsmittel so lange in Berührung miteinander bleiben, bis die Pilzzellen entsprechend extrahiert sind. Es ist zweckmässig, die Extraktion unter Rühren und mit Anwendung eines vor dem Extraktor angebrachten Vorrührbehälters durchzuführen, so dass sich das Extrahierungsmittel und die ungefilterte Fermentbrühe entsprechend lange zusammen aufhalten. Unter vorgangsmässig annehmbaren Rührverhältnissen können innerhalb von etwa drei Minuten 95 % des maximalen Extrahierungswirkungsgrades der Pilzzellen erreicht werden. Im allgemeinen und in Abhängigkeit von den Rührbedingungen beträgt die optimale Extraktionszeit 3 bis 15 Minuten, vorzugsweise 3 bis 8 Minuten.

Aus dem Extrakt können durch Eindampfen und/oder durch Petroläther-Fällung Ergotoxin-Alkaloide gewonnen werden.

Der pH der extrahierten Fermentbrühe wird dann auf einen Wert von 7 bis 9 eingestellt, dann werden die wasserlöslichen Alkaloide auf an sich bekannte Weise zweckmässig in Form von Maleinsäuresalzen gewonnen.

Das beanspruchte Verfahren wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

250 l submerse Kultur, die durch die Anwendung des unter Nummer MNG 00088 deponierten *Claviceps purpurea* Stammes nach dem Verfahren gemäss der ungarischen Patentschrift Nr. 164 816 und des den osmotischen Druck des Nährbodens verstärkenden Zusatzstoffes entsprechend der ungarischen Patentschrift Nr. 153 739 erhalten wurden, werden bei Beendigung der Fermentation unter Rühren bei dem eigenen pH-Wert von 4,5 der Fermentbrühe mit 125 l Methylisobutylketon 10 Minuten lang extrahiert. Der Alkaloidgehalt der submersen Kultur beträgt 0,812 mg/ml Ergotoxin-Alkaloid und 0,350 mg/ml Ergometrin. Danach werden die extrahierte Fermentbrühe und das Mycel sowie das das Extrakt enthaltende Gemisch in einer Filterzentrifuge gefiltert, dann die einzelnen Phasen getrennt. Zu der wässrigen Phase werden wieder 125 l Methylisobutylketon gegeben, erneut wird Mycel hinzugegeben und das Gemisch wieder 10 Minuten gerührt, und nach dem Filtern werden die Phasen getrennt.

Die Lösungsmittelphase wird im Vakuum bei max. 40°C auf ein Volumen von 2 Litern eingedampft, daraufhin wird der Verdampfungsrückstand unter intensivem Rühren in 20 Liter Petroläther gegossen. Der abgeschiedene Niederschlag wird 10 Minuten stehengelassen, gefiltert und zweimal mit 0,1 Liter Petroläther gewaschen, dann im Vakuum bei max. 40°C getrocknet. Das Gewicht des erhaltenen Produkts beträgt 279,5 g.

Zusammensetzung des Produkts: 730 mg/g Ergotoxin-Alkaloid und 20 ml/g Ergometrin.

Der pH-Wert des Gemisches der wässrigen Phase und

des Mycels wird mit konzentriertem Ammoniak auf 8 eingestellt, dann zweimal mit 125 Liter Methylisobutylketon unter Rühren extrahiert. Aus dem Reaktionsgemisch werden durch Filtern und dann durch Trennen der Flüssigkeitsphasen wasserlösliche Alkaloide enthaltende Extrakte gewonnen. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum bei max. 40°C auf ein Volumen von 5 Litern eingedampft, dann wird bis zum Erreichen des pH-Werts von 4 unter intensivem Rühren eine Lösung von Maleinsäure in Methylisobutylketon zu dem Verdampfungsrest hinzugegeben. Das ausgeschiedene Ergometrinmaleat wird gefiltert, mit 2 x 300 ml Methylisobutylketon gewaschen, dann im Vakuum bei max. 40°C getrocknet. Das Gewicht des erhaltenen Produkts beträgt 116,4 g, das 683 mg/g Ergometrin in Form von Ergometrinmaleat enthält.

Beispiel 2

Die mit dem in der ungarischen Patentschrift Nr. 164 816 beschriebenen Verfahren und unter Anwendung des unter Nr. MNG 00186 deponierten *Claviceps purpurea* Stamms erzeugten 100 Liter Fermentbrühe, in der Ergokornin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,351 mg/ml das α -Ergokryptin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,137 mg/ml und das β -Ergokryptin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,152 mg/ml zu finden sind, wird nach der Beendigung der Fermentation bei dem eigenen pH-Wert der Fermentbrühe (5,2) mit einer Geschwindigkeit von 40 Liter/Std. in einen Mischextraktor geschickt und gleichzeitig wird Äthylacetat mit einer Geschwindigkeit von 40 Liter/Std. hinzugegeben. Danach wird das gerührte Gemisch in einem Kammer-Selbstentleerungsseparator in eine Äthylacetat- und eine wässrige Mycel-Phase getrennt. Dieser Vorgang wird so gelenkt, dass die Aufenthaltsdauer der Fermentbrühe in dem Extraktor 6-8 Minuten beträgt. Nach der Trennung sind in dem Äthylacetat-Extrakt Ergokornin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,427 mg/ml, das α -Ergokryptin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,172 mg/ml und das β -Ergokryptin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,187 mg/ml vorhanden.

Beispiel 3

Die mit dem Verfahren nach der ungarischen Patentschrift 164 816 und unter der Anwendung des unter der Nr. MNG 00022 deponierten *Claviceps purpurea* Stammes gewonnenen 10 m³ Fermentbrühe, in der Ergokornin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,423 mg/ml, das α -Ergokryptin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,381 mg/ml und das β -Ergokryptin und sein Epimer in einer Konzentration von 0,093 mg/ml vorhanden sind, wird bei dem eigenen pH-Wert (4,5) der Fermentbrühe zweimal extrahiert. Die Extraktion wird in einem mit einer Umdrehungszahl von 1500/Minute arbeitenden Podbielniak D 36 Extraktor mit Äthylacetat durchgeführt. 2 x 400 Liter Äthylacetat werden auf 1 m³ Fermentbrühe berechnet angewendet. Zur Sicherung der durchschnittlichen Aufenthaltsdauer von 6 Minuten wird ein Vormischbehälter benutzt, in dem die ungefilterte Fermentbrühe mit 40 Volumenprozent Äthylacetat bzw. nach Beginn der Extraktion mit 40 Volumenprozent äthylacetathaltigem Extrakt vermischt wird. Der Extraktor wird so betrieben, dass Äthylacetat in dem Extraktor die kontinuierliche Phase bildet und darin die Fermentbrühe dispergiert sei. In der innerhalb des Extraktors aktiven Phase fällt also etwa 1 Liter Äthylacetat auf 0,1-0,15

Liter Fermentbrühe. Die äthylacetathaltigen Extrakte werden vereinigt und zur Weiterverarbeitung weggestellt (des weiteren: bei saurem pH-Wert gewonnenes Extrakt). Der pH der zurückgebliebenen Fermentbrühe wird dann mit konzentrierter wässriger Ammoniumhydroxyd-Lösung auf einen Wert von 8,5 gestellt, danach zweimal mit Äthylacetat erneut extrahiert. Die Extrakte werden vereinigt.

Das bei einem sauren pH-Wert gewonnene äthylacetathaltige Extrakt wird im Vakuum bei max. 40°C zu einem Volumen von 50 Litern eingedampft, dann wird unter intensivem Rühren der Verdampfungsrückstand in 500 Liter Petroläther gegossen. Das abgeschiedene Alkaloidgemisch wird in der Filterzentrifuge gefiltert, zweimal mit 15 Liter Petroläther gewaschen, dann im Vakuum bei max. 40°C getrocknet. Das erhaltene Produkt hat ein Gewicht von 12,19 kg, seine Zusammensetzung ist wie folgt:

302 mg/g Ergokornin und sein Epimer,
270 mg/g α -Ergokryptin und sein Epimer und
68 mg/g β -Ergokryptin und sein Epimer.

Beispiel 4

Die mit dem Verfahren nach der ungarischen Patentschrift Nr. 164 816 und unter Anwendung des unter Nr. MNG 00088 deponierten *Claviceps purpurea* Stammes hergestellten 250 Liter Fermentbrühe, die 822 mg/ml Ergotoxin-Alkaloid und 0,150 mg/ml Ergometrin enthält, werden bei dem eigenen pH-Wert der unfiltrierten Fermentbrühe (in diesem Fall 4,7) in einem Extraktor mit RDC-System (rotating disc column) mit Äthylacetat extrahiert.

Der innere Durchmesser des Extraktors beträgt 150 mm, die Umdrehungszahl des Mischers 150/Minute, die Anzahl der aktiven Zellen 50. Vor den Extraktor wird ein eine Aufenthaltsdauer von durchschnittlich 5 Minuten sichernder Vormischbehälter eingefügt, in dem die unfiltrierte Fermentbrühe mit 40 Volumenprozent Äthylacetat bzw. nach Beginn der Extraktion mit 40 Volumenprozent äthylacetathaltigem Extrakt vermischt wird. Im Laufe der Extraktion werden die vorgemischte Fermentbrühe in die obere O. Zelle mit einer Geschwindigkeit von 60 Liter/Std. und das Äthylacetat in die untere 50. Zelle mit einer Geschwindigkeit von 48 Liter/Std. in den kontinuierlichen RDC-Gegenstromextraktor eingespeist. Auf 100 Liter Fermentbrühe berechnet werden 80 Liter Äthylacetat verwendet. In dem Extraktor ist das Äthylacetat die kontinuierliche Phase, und in dem aktiven (gemischten) Abschnitt des Extraktors werden 0,1-0,25 Liter Fermentbrühe in 1 Liter Äthylacetat dispergiert. Nach einer Anlaufzeit von etwa 90 Minuten wird die Alkaloid-Konzentration des Extrakts (die bei der oberen Phase austretende äthylacetathaltige Phase) bzw. des Raffinats (die bei der unteren Zelle austretende extrahierte Fermentbrühe) konstant, d.h. die Funktion des Extraktors ist jetzt im Gleichgewicht. Dann wird die Vorlage getauscht und während der Extraktor praktisch beliebig lang betrieben wird, wird in den Vorlagen immer das Extrakt bzw. Raffinat mit einer für das Gleichgewicht notwendigen Zusammensetzung gesammelt. Wenn bei der Eingabe von genau 100 Litern Fermentbrühe gewonnenes Extrakt und Raffinat gesammelt werden, beträgt das Volumen des Extrakts 63 Liter und das des Raffinats 110,5 Liter.

Das hauptsächlich Ergotoxin-Alkaloide enthaltende Extrakt enthält 1,217 mg/ml Ergotoxin-Alkaloid und 0,011 mg/ml Ergometrin. Das in erster Linie Ergometrin enthaltende Raffinat enthält 0,0529 mg/ml Ergotoxin-Alkaloid und 0,133 mg/ml Ergometrin.